

# Fotolitička razgradnja nitrofurantoina

---

**Kocijan, Martina**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2016**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:984237>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-07**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ**

**Martina Kocijan**

**Fotolitička razgradnja nitrofurantoina**

**ZAVRŠNI RAD**

**Voditelj rada: prof. dr. sc. Sandra Babić**

**Članovi ispitne komisije: prof. dr. sc. Sandra Babić**

**dr. sc. Mirta Čizmić**

**izv. prof. dr. sc. Irena Škorić**

**Zagreb, rujan 2016.**

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za analitičku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu uz financijsku potporu Hrvatske zaklade za znanost projektom IP-2014-09-2353 „Sudbina farmaceutika u okolišu i tijekom naprednih postupaka obrade vode“



Zahvaljujem se:

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Sandri Babić na predloženoj temi, savjetima, pomoći i velikom strpljenju koje mi je pružila tijekom izrade i pisanja ovog rada.

Zahvaljujem se dr. sc. Martini Biošić na velikom trudu, volji i vremenu koje je uložila kako bi mi pomogla u izradi ovog rada te na svim savjetima kojima me usmjeravala.

Također se zahvaljujem mag. chem. Dariu Dabiću i tehničarkama Zavoda za analitičku kemiju Slavici Kos i Tanji Ivančić na pruženoj pomoći tijekom izrade eksperimentalnog dijela ovog rada, te svim djelatnicima Zavoda za analitičku kemiju na susretljivosti u svakom trenutku.

# SAŽETAK

Farmaceutici prisutni u okolišu mogu se razgraditi na različite načine. Za farmaceutike koji nisu podložni biorazgradnji i hidrolizi, direktna i indirektna fotoliza djelovanjem Sunčeve svjetlosti najznačajniji je put abiotičke razgradnje u površinskim vodama.

Cilj ovoga rada bio je proučiti direktnu i indirektnu fotolitičku razgradnju farmaceutika nitrofurantoina. Otopine nitrofurantoina pripremljene su u MilliQ vodi s pH-vrijednostima 4, 6, 8 i 10, izvorskoj vodi, sintetskoj otpadnoj vodi te otopinama klorida, sulfata, nitrata, fosfata i huminskih kiselina. Pripremljene otopine izlagane su umjetnom Sunčevom zračenju te je tijekom fotolitičke razgradnje praćen tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti vezanoj detektorom s nizom dioda (HPLC-DAD).

Rezultati istraživanja pokazali su da fotolitička razgradnja nitrofurantoina ovisi o pH-vrijednosti, povećanjem pH-vrijednosti vode, brzina se smanjuje. Također, rezultati pokazuju da sastav matice uzorka vode utječe na brzinu fotolitičke razgradnje NFT-a te je ispitan utjecaj pojedinih sastojaka matice ( $\text{Cl}^-$ , huminske kiseline,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ). Najznačajniji utjecaj u vidu smanjenja brzine razgradnje uočen je u prisutnosti huminskih kiselina i fosfata. Dobiveni rezultati u ovome radu pridonijet će boljem razumijevanju ponašanja antibiotika nitrofurantoina u vodama u okolišu te mogućem utjecaju na ljudsko zdravlje i okoliš.

**Ključne riječi:** antibiotici, nitrofurantoin, fotolitička razgradnja, utjecaj matice, tekućinska kromatografija

## ABSTRACT

The pharmaceuticals present in the environment may be degraded in different ways. For pharmaceuticals that are not subject to biodegradation and hydrolysis, direct and indirect photolysis by sunlight is the most important mechanism of degradation in surface waters.

The aim of this work was to study the direct and indirect photolytic degradation of the antibiotic nitrofurantoin. Nitrofurantoin solutions prepared in MilliQ water with a pH value of 4, 6, 8 and 10; spring water, synthetic waste water and solutions of chloride, sulfate, nitrate, phosphate and humic acid were prepared and exposed to artificial solar radiation. The rate of photolytic degradation was monitored by high performance liquid chromatography with diode array detection (HPLC-DAD).

The results showed that the photolytic degradation of nitrofurantoin depends on pH; the degradation is slower in the solutions with higher pH values. Also, degradation rate depends on matrix composition and therefore degradation the impact of individual ions ( $\text{Cl}^-$ , humic acid,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ) were investigated. The most significant reduction in degradation rate was observed in the presence of humic acids and phosphate.

The results of this study will contribute to a better understanding of the fate of nitrofurantoin in the environment and the possible impact on human health and the environment.

Key words: antibiotic, nitrofurantoin, photolytic decomposition, matrix effect, liquid chromatography

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	<b>8</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>9</b>
<b>2.1 Farmaceutici u okolišu</b> .....	<b>9</b>
<b>2.2 Razgradnja farmaceutika u okolišu</b> .....	<b>11</b>
2.2.1 Fotolitička razgradnja farmaceutika u okolišu .....	12
2.2.2 Kinetika fotolitičke razgradnje farmaceutika u okolišu .....	14
<b>2.3 Antibiotici</b> .....	<b>15</b>
2.3.1 Nitrofurantoin .....	15
<b>2.4 Kromatografija</b> .....	<b>16</b>
2.4.1 Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti – HPLC .....	17
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>19</b>
<b>3.1 Materijali</b> .....	<b>19</b>
3.1.1 Kemikalije .....	19
3.1.2 Nitrofurantoin .....	20
3.1.3 Izvorska i sintetska otpadna voda .....	20
<b>3.2 Instrumenti</b> .....	<b>22</b>
3.2.1 Analitička vaga.....	22
3.2.2 pH-metar .....	23
3.2.3 Uređaj za filtraciju .....	24
3.2.4 Suntest CPS+.....	24
3.2.5 Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti.....	25
<b>3.3 Metode rada</b> .....	<b>26</b>
3.3.1 Priprema standardnih otopina nitrofurantoina .....	26
3.3.2 Osvjetljavanje otopina nitrofurantoina .....	26
3.3.3 Analiza tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti .....	27
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	<b>28</b>
<b>4.1 Kromatografska analiza</b> .....	<b>29</b>
<b>4.2 Kinetika fotolitičke razgradnje</b> .....	<b>30</b>
<b>4.3 Utjecaj pH-vrijednosti na fotolitičku razgradnju nitrofurantoina</b> .....	<b>34</b>
<b>4.4 Utjecaj koncentracije nitrofurantoina na brzinu fotolitičke razgradnje</b> .....	<b>36</b>
<b>4.5 Utjecaj matice uzorka na fotolitičku razgradnju nitrofurantoina</b> .....	<b>37</b>

4.6	Utjecaj intenziteta sunčanja na fotolitičku razgradnju nitrofurantoina.....	41
5.	ZAKLJUČCI.....	42
	LITERATURA .....	43
	ŽIVOTOPIS.....	45



## **1. UVOD**

Farmaceutici su kompleksne organske molekule s različitim fizikalno-kemijskim svojstvima koje su odgovorne za funkciju lijeka. Svakodnevno ih koristimo u medicini, ali i veterini. Iako imaju značajnu ulogu u liječenju ljudi i životinja, mogu nepovoljno utjecati na okoliš. Ubrajaju se u tzv. „nova zagađivala“, tj. spojeve s potencijalno štetnim djelovanjem na okoliš i živi svijet, a za koje ne postoji zakon kojim bi se reguliralo njihovo ispuštanje u okoliš. Nažalost, velike količine farmaceutika kontinuirano se unose u okoliš, putem nepravilnog odlaganja farmaceutskih proizvoda kojima je istekao rok trajanja, komunalnih otpadnih voda te kao rezultat industrijske proizvodnje. Kada farmaceutici dođu u okoliš oni podliježu različitim procesima koji mogu rezultirati nastajanjem novih spojeva drugačijih struktura i fizikalno-kemijskih svojstava. Fotolitička razgradnja, kao jedan od abiotičkih procesa, može biti značajan put razgradnje farmaceutika u okolišu.

## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1 Farmaceutici u okolišu

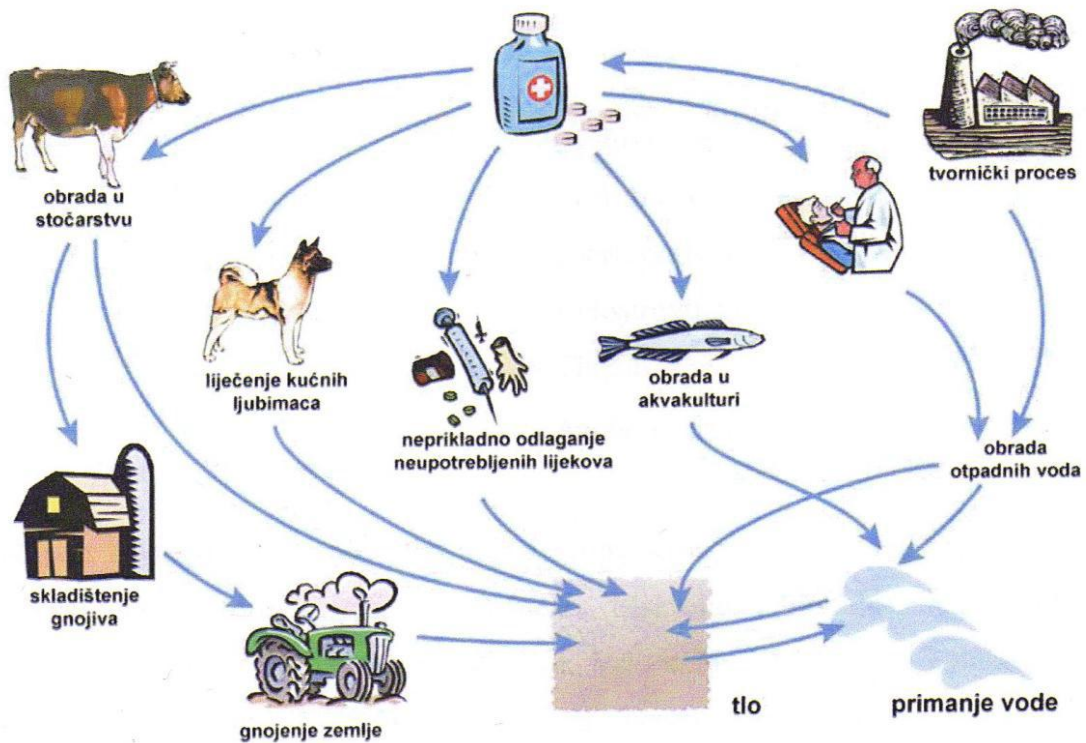
Mikrozagađivala su organski spojevi prisutni u okolišu u niskim koncentracijama i potječu od kemikalija koje su sastavni dio našeg svakodnevnog života (farmaceutici, biocidi, pesticidi, proizvodi za osobnu njegu, industrijske kemikalije, itd.). Od njih najviše zabrinjavaju farmaceutici-antibiotici. Masovna upotreba farmaceutika započinje oko 1980. godine i od tada, svake godine povećava se količina farmaceutika koji se unose u okoliš. Prema podacima iz 1999. godine u Europskoj uniji godišnje se trošilo oko 13600 tona farmaceutika, što čini oko 65% ljudske potrošnje. U Europi više od 4000 različitih farmaceutika svakodnevno dospijeva u okoliš. Ove brojke pokazuju da je vrlo važno pravilno zbrinjavati farmaceutike kako bi se izbjegle negativne posljedice [1].

Farmaceutici se ubrajaju u grupu tzv. „novih zagađivala“ jer njihovo ponašanje u prirodi još nije u potpunosti istraženo, te ne postoji zakonska regulativa o njihovom ispuštanju u okoliš. To predstavlja veliki problem, te je stoga važno pratiti njihovu prisutnost i ponašanje u okolišu kako bi se spriječili negativni utjecaji na okoliš i ljude.

Medicina i veterina nezamislive su bez korištenja velikog broja farmaceutika. Svake godine povećava se upotreba farmaceutika za postavljanje dijagnoze, liječenje i prevenciju bolesti kod ljudi i životinja. Iako industrijsko-tehnološki razvitak doprinosi poboljšanju kvalitete ljudskog života, s druge strane se javljaju ozbiljne posljedice za okoliš i ljude. Farmaceutici su sveprisutni u okolišu, kontinuirano se unose putem ljudskih ili životinjskih izlučevina, odlaganjem neiskorištenih proizvoda te putem otpadnih voda farmaceutske industrije (slika 1) [2, 3]. Nakon unošenja u organizam čovjeka ili životinje farmaceutici prolaze kroz niz biokemijskih reakcija, metaboliziraju se i izlučuju kao početni spoj ili smjesa. Osim u početnom obliku, farmaceutici se unose u okoliš i u obliku metabolita.

Na slici 1. Prikazani su putevi unošenja farmaceutika u okoliš. Životinjske izlučevine su veliki izvor farmaceutika u okolišu jer većina farmaceutika koji se koriste u veterinarskoj medicini završava u gnojivu za poljoprivredna dobra. Prilikom raspršivanja i nanošenja gnojiva na poljoprivredne površine farmaceutici prisutni u gnojivu zbog svoje dobre topljivosti predstavljaju prijetnju podzemnim, površinskim te pitkim vodama. Jedan od načina na koji

farmaceutici dopijevaju u okoliš je i nepropisno odlaganje neupotrijebljenih farmaceutika ili farmaceutika kojima je istekao rok trajanja. Problem se također javlja pri ispuštanju komunalnih otpadnih voda, a u manjoj mjeri i kod industrijskih otpadnih voda s obzirom da postojeća postrojenja za obradu otpadnih voda nisu učinkovita u uklanjanju farmaceutika te su stoga potencijalni izvori njihova ispuštanja u okoliš [4].



**Slika 1.** Putevi unošenja farmaceutika u okoliš

Neprikladnim odlaganjem antibiotika, kao i njihovom prekomjernom upotrebom razvija se rezistentnost na antibiotike, što može biti vrlo opasno za ljudsko zdravlje. Procjenjuje se da se čak oko 70% antibiotika izravno unosi u vodu.

Postoje kratkoročni i dugoročni utjecaji farmaceutika na okoliš koji se najčešće proučavaju na organizmima kao što su alge, rakovi i ribe. Dugoročni utjecaji su značajniji s obzirom da kratkoročni nemaju utjecaj na potomke.

Farmaceutici imaju loš utjecaj na rast i plodnost organizama. Dokazano je da 10-15% farmaceutika ima dugoročnu toksičnost za određene biološke vrste, a podaci su dostupni za manje od 15% farmaceutika od ukupnog broja farmaceutika koji dopijevaju u okoliš [5].

Zbog svojih fizikalno-kemijskih svojstava kao što je npr. hidrofilnost, farmaceutici i njihovi metaboliti imaju sposobnost prolaska kroz sve prirodne filtre i postrojenja za obradu otpadnih voda te mogu dospjeti u vode u okolišu. Studije pokazuju da se metodama pročišćavanja koje

se danas koriste, uklanja samo oko 50% prisutnih farmaceutika. Uz to, navedene metode u obradi voda koje sadrže farmaceutike i njihove metabolite energetski su iscrpne, pa se sve više proučava razgradnja farmaceutika pod utjecajem sunčevog zračenja [5].

## 2.2 Razgradnja farmaceutika u okolišu

Struktura farmaceutika može se mijenjati pod različitim utjecajima, najprije u ljudskim i životinjskim organizmima, zatim prilikom pročišćavanju otpadnih voda i u konačnici u okolišu. Promjena strukture osnovne molekule farmaceutika može biti rezultat transformacije ili razgradnje. Pri tome se pod transformacijom podrazumijevaju promjene pri kojima ne dolazi do razgradnje osnovne molekule, odnosno promjene u molekulskoj masi, nego do promjene u strukturi osnovne molekule. Pri razgradnji osnovna molekula se razgrađuje na manje strukturne jedinice. Na taj način nastaju transformacijski, odnosno razgradni produkti. Nakon što dospiju u okoliš, farmaceutici mogu biti podvrgnuti različitim procesima, kao što su biotički, npr. biorazgradnja bakterijama i gljivicama ili abiotički kao što su hidroliza, fotoliza, oksidacija i redukcija [6]. Rezultat ovakvih procesa je smanjenje koncentracije osnovne molekule te nastanak novih spojeva tzv. razgradnih produkata [6]. Razgradni produkti mogu imati drugačija fizikalno-kemijska svojstva od osnovne molekule, a ima i slučajeva kada su razgradni produkti toksičniji od osnovne molekule. Nadalje, neki farmaceutici pokazuju izrazitu tendenciju sorpcije na krute matice (tlo, sediment, suspendirane čestice) te se tako mogu akumulirati u tlu i sedimentu. Sorpcijom farmaceutika ne dolazi do promjene njihove strukture, ali se smanjuje njihova farmaceutska aktivnost u okolišu.

Biorazgradnja je vrlo poželjan proces pri kojem bakterije i gljivice razgrađuju organsku tvar do anorganskih soli, ugljikovog dioksida i vode pri aerobnim uvjetima. Ukoliko se postigne potpuna mineralizacija, ne nastaju toksični produkti [7]. Međutim, ukoliko ne dolazi do potpune mineralizacije produkti biorazgradnje mogu biti toksičniji i stabilniji od osnovne molekule što uzrokuje njihovu akumulaciju u okolišu. Bakterije i gljivice su organizmi koji najbolje razgrađuju farmaceutike, pri čemu su gljivice važne za biorazgradnju farmaceutika u tlu, a bakterije za njihovu razgradnju u vodi. Budući da su antibiotici dizajnirani kako bi djelovali protiv bakterija, razgradnja bakterijama ne vrijedi za tu skupinu farmaceutika [6].

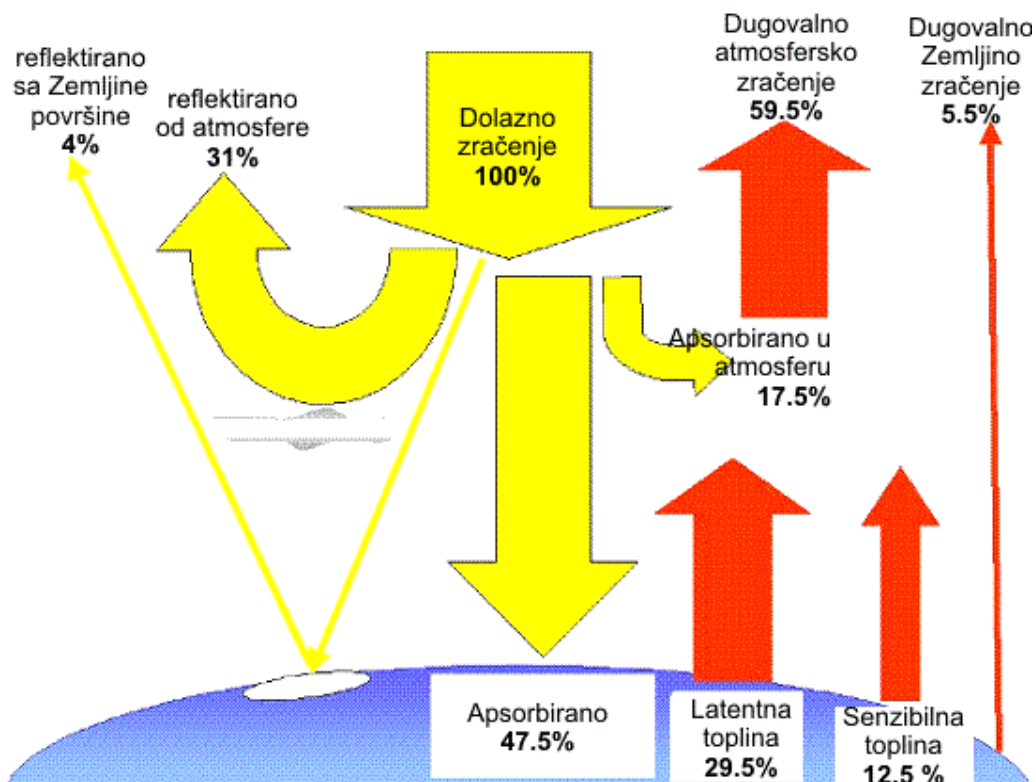
Ako farmaceutik nije podložan sorpciji i hidrolizi te je osjetljiv na Sunčevu svjetlost, fotolitička razgradnja može biti značajan put njegove razgradnje u okolišu. Fotolitička

razgradnja ima značajan utjecaj u površinskim vodama kroz koje Sunčevo zračenje može prodrijeti. Učinkovitost fotolize također ovisi o godišnjem dobu, geografskoj širini, intenzitetu i valnoj duljini svjetlosti, pH-vrijednosti i tvrdoći vode, tipu matice i lokaciji. Ukoliko se spoj nalazi u zamućenim vodama, rijekama ili jezerima koji su zaklonjeni drvećem ili ako je spoj prekriven tлом ili sedimentom neće doći do fotolize zbog nedostatka Sunčeve svjetlosti [2, 6].

### 2.2.1 Fotolitička razgradnja farmaceutika u okolišu

Fotolitička razgradnja je kemijska razgradnja tvari pod utjecajem Sunčeve svjetlosti. To je bitan način razgradnje farmaceutika u okolišu.

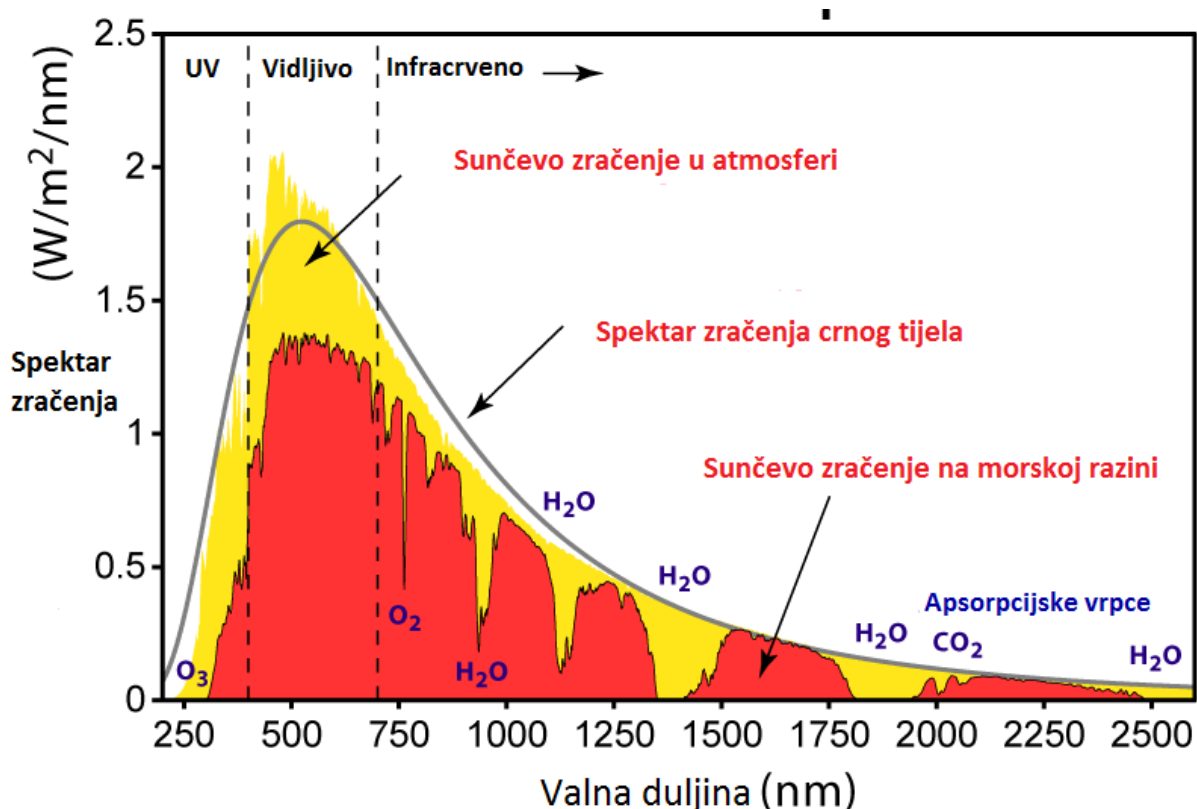
Sunčeve zrake koje dopiru do Zemlje, glavni su izvor energije i života na našem planetu. Intenzitet Sunčevog zračenja razlikuje se ovisno o geografskom položaju, klimatskim uvjetima, dobu godine, dobu dana itd. Zračenje dolazi na Zemlju kao izravno i difuzno (raspršeno) (slika 2). Raspršenje se događa na česticama vode (oblaci) i prašine, te na molekulama plinova u atmosferi (Rayleighovo raspršenje). Udio difuznog zračenja je veći zimi nego ljeti.



Slika 2. Raspodjela sunčevog zračenja u atmosferi [8]

Za fotolitičku razgradnju farmaceutika značajno je prizemno Sunčevo zračenje, odnosno ono koje kroz atmosferu dospije do površine Zemlje. Ono je, naravno, slabije nego ekstraterestričko (zračenje na ulasku u Zemljinu atmosferu), jer se na putu kroz atmosferu izgubi od 25% do čak 50% energije zbog raspršenja i apsorpcije. Kolika će biti insolacija (obasjavanje Zemljine površine Sunčevim zrakama) znatno ovisi o godišnjem dobu i podneblju.

Spektar Sunčevog zračenja (slika 3), koje dolazi do Zemljine atmosfere, nalazi se u rasponu od 100 nm do oko 1 mm valne duljine.



Slika 3. Spektar Sunčevog zračenja [9]

Da bi farmaceutik bio podložan fotolitičkoj razgradnji u okolišu, mora apsorbirati Sunčevo zračenje, a kod farmaceutika tu sposobnost najčešće imaju aromatski prsteni.

Fotolitička razgradnja može biti direktna ili indirektna. Kod direktne fotolize molekule apsorbiraju Sunčevo zračenje što dovodi do razgradnje molekule. Indirektna fotoliza uključuje tvari koje su prisutne u površinskim vodama (nitrati ioni, željezovi ioni, huminske kiseline, itd.) i koje apsorbiraju Sunčevu svjetlost, te prelaze u pobuđeno stanje stvarajući radikale (singletni kisik, hidroksi i peroksi radikale) koji uzrokuju fotolitičku razgradnju farmaceutika [10].



Unatoč spoznaji da je fotoliza jedan od značajnijih procesa koji određuje sudbinu farmaceutika u okolišu, do sada nema puno istraživanja fotolize farmaceutika. Vrlo je bitno razumjeti ponašanje farmaceutika u okolišu s obzirom da novi spojevi nastali procesima razgradnje mogu biti toksičniji od početnog spoja te mogu dovesti do negativnih utjecaja na prirodu i ljude.

## 2.2.2 Kinetika fotolitičke razgradnje farmaceutika u okolišu

Proučavanjem kinetike fotolitičke razgradnje moguće je odrediti brzinu razgradnje farmaceutika, odnosno vrijeme unutar kojega će se razgraditi pola od početne količine ispitivanog spoja, tzv. vrijeme poluraspada. Većina fotolitičkih reakcija ponaša se kao reakcija prvog reda koja pretpostavlja da se koncentracija ispitivanog spoja smanjuje proporcionalno s vremenom:

$$\frac{dc}{dt} = k \cdot c \quad (1)$$

Gdje je:

$c$  - koncentracija početnog spoja,

$t$  - vrijeme provođenja eksperimenta,

$k$  - konstanta brzina reakcije

Integriranjem izraza (1) dobije se izraz:

$$\ln \frac{c_0}{c} = k \cdot t \quad (2)$$

U navedenom izrazu  $c_0$  je početna koncentracija spoja pri  $t = 0$ . Konstantu brzine reakcije moguće je odrediti iz jednadžbe pravca, kao nagib pravca koji prikazuje ovisnost  $\ln(c_0/c)$  o  $t$ .

Vrijeme poluraspada spoja ( $t_{1/2}$ ) moguće je odrediti iz izraza:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (3)$$

## 2.3 Antibiotici

Antibiotik u širem smislu je kemoterapijski agens koji inhibira ili prekida rast organizma. Pojam antibiotik izvorno se koristi za sredstva s biološkom aktivnošću protiv živih organizama, međutim danas se odnosi na tvari s antibakterijskim, anti-gljivičnim ili anti-parazitskim djelovanjem.

Antibiotici se mogu podijeliti po kemijskoj strukturi ili mehanizmu djelovanja. Oni su raznolika skupina spojeva koji se mogu podijeliti u različite podskupine, kao što su  $\beta$ -laktami, kinoloni, tetraciklini, makrolidi, sulfonamidi i drugi. To su složene molekule s različitim funkcionalnim grupama. Baktericidni antibiotici ubijaju bakterije, bakteriostatski antibiotici samo sprječavaju njihovo umnažanje i omogućavaju tijelu da savlada i ukloni preostale bakterije. Za većinu zaraznih bolesti čini se da su ta dva tipa antibiotika jednako učinkovita, ali ako je imunološki sustav oštećen ili ako osoba ima tešku infekciju, kao što je bakterijski endokarditis ili meningitis, baktericidni antibiotik je obično učinkovitiji [11].

Antibiotici se koriste u humanoj i veterinarskoj medicini, kao i u akvakulturi, u svrhu sprečavanja ili liječenja bakterijskih infekcija. Danas se koristi nekoliko stotina različitih antibiotski i antimikotički aktivnih tvari, npr više od 250 u Njemačkoj [6].

### 2.3.1 Nitrofurantoin

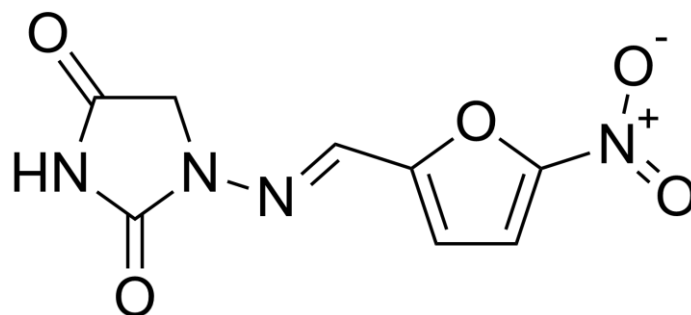
Nitrofurantoin je antibiotik koji se koristi za liječenje infekcija mokraćnog mjehura.

Koristi se za liječenje infekcija od 1953. godine. Prodaje se pod trgovačkim imenom Macrobid. Nije učinkovit za infekcije bubrega te ga ne bi trebali koristiti ljudi s problemima s bubrežima. Uzima se na usta.

Česte nuspojave uključuju mučninu, gubitak apetita, proljev i glavobolje. Rijetko se može pojaviti utrnulost, plućni problemi ili problemi s jetrom. Ima jedinstveni mehanizam djelovanja, ometajući rast bakterija na 3 različite lokacije. Resorpcija nitrofurantoina ovisi o pH-vrijednosti. Nitrofurantoin se prvenstveno izlučuje u donji mokraćni sustav, tj mokraćni mjehur, što je korisno u liječenju [12, 13].

Nitrofurantoin se brzo i potpuno apsorbira iz probavnog trakta. Lijek u obliku velikih kristala apsorbira se i izlučuje sporije. Poluživot nitrofurantoina u plazmi je 0,3 do 1 sat. Oko 40% lijeka izlučuje se iz organizma putem urina u nepromijenjenom obliku [14].

Strukturna formula nitrofurantoina prikazana je na slici 4.



Slika 4. Struktura nitrofurantoina

## 2.4 Kromatografija

Kromatografija je danas najčešće korištena separacijska tehnika koja mogućnošću svoje modifikacije pruža velike mogućnosti u istraživanju i praksi. Kromatografija se temelji na različitoj sorpciji sastojaka smjese na nekom prikladnom sorbensu. Kromatografski sustav sastoji se od analiziranog uzorka te pokretne i nepokretne faze. Tijekom kromatografskog procesa uzorak se nalazi u dinamičkoj ravnoteži između tih dviju faza. Zbog gibanja nepokretne faze narušava se ravnotežno stanje, što uzrokuje putovanje skupine molekula u smjeru gibanja pokretne faze. Nepokretna faza mora biti odabrana tako da je zadržavanje molekula na njoj selektivno, tako da različiti sastojci smjese budu različito dugo vezani, što uzrokuje razdvajanje sastojka smjese.

S obzirom na prirodu ravnoteže između pokretne i nepokretne faze, kromatografske se tehnike mogu podijeliti na:

- a) razdjelnu kromatografiju,
- b) adsorpcijsku kromatografiju,
- c) afinitetnu kromatografiju, i
- d) kromatografiju isključenjem

Kromatografske tehnike mogu se podijeliti i na temelju sastava pokretne faze. Tako je pri plinskoj kromatografiji pokretna faza inertni plin, pri tekućinskoj kromatografiji to je kapljevina male viskoznosti, a pri fluidnoj kromatografiji u superkritičnim uvjetima pokretna faza je tekućina iznad svoje kritične temperature i tlaka.

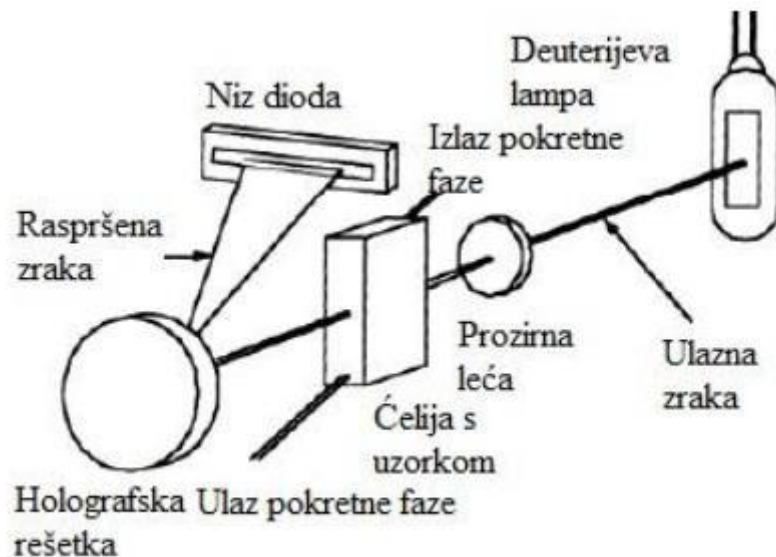
Informacija o uspješnosti separacije sadržana je u kromatogramu, tj. u zapisu koncentracijskog ili masenog profila sastojka uzorka nakon završenog procesa razdvajanja. Na temelju broja opaženih koncentracijskih profila može se zaključiti o složenosti ispitivanog uzorka. Položaj mrlje ili kromatografske krivulje na kromatogramu pomaže u dokazivanju kvalitativnog sastava uzorka, a na temelju površine kromatografske krivulje, odnosno njezine visine, može se dobiti kvantitativna procjena. [15]

#### 2.4.1 Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti – HPLC

Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (*eng. high performance liquid chromatography* - HPLC) visoko je učinkovita razdjelna kromatografija koja se u 75 % primjena danas koristi kao kromatografija obrnutih faza.

Instrument za HPLC analizu sastoji se od sljedećih komponenata: spremnika pokretne faze, pumpe, uređaja za unošenje uzorka, kolone, detektora, posude za otpad, računala.

Otapala koja se koriste kao pokretna faza trebaju biti visoke čistoće i valja ih osloboditi otopljenih plinova ili suspendiranih čestica, npr. pomoću mikroporoznih filtera pod vakuumom. Pumpa služi za unošenje pokretne faze pod visokim tlakom (do 15 MPa) stalnom brzinom ( $0,1-10 \text{ mL min}^{-1}$ ) u kolonu. Uzorak se unosi mikrolitarskom špricom kroz 6-kanalni ventil u sustav za injektiranje tzv. petlju (zapremina 5 do 500 mL) u kojoj se održava tlak. Prebacivanjem ventila otapalo prolazi kroz injektor te sobom nosi uzorak na kolonu. Kolona je najčešće cijev izrađena iz nehrđajućeg čelika punjena odgovarajućim sorbensom-nepokretnom fazom. Detektori mogu pratiti značajke pokretne faze ili otopljene tvari. U prvom slučaju mjeri se indeks loma ili vodljivost pa je analit odnosno otopljena tvar dokazan neizravno promjenom ovih veličina. U drugom slučaju prate se karakteristike otopljene tvari kao što su apsorpcija u UV/Vis ili IR području, fluorescencija ili struja na elektrodi. Vrlo su dobri detektori s nizom dioda (*eng. "diode-array" detektor* - DAD) (HPLC-DAD sustavi) koji omogućuju snimanje cijelog spektra eluiranog sastojka u UV/Vis području: apsorpcija se snima u ovisnosti o vremenu zadržavanja i o valnoj duljini [16]. Detektor s nizom dioda prikazan je na slici 5.



Slika 5. Detektor s nizom dioda [17]

Svjetlo iz deuterijeve lampe usmjerava se uz pomoć prozirne leće tako da cijeli snop svjetla može proći kroz detektorsku ćeliju na holografsku rešetku. Na taj način uzorak je izložen svjetlu svih valnih duljina koje dolaze iz lampe. Raspršeno svjetlo od rešetke fokusira se na niz dioda. Niz može sadržavati stotine dioda, a izlaz iz svake diode pohranjuje se na računalu. Spektar otopljene tvari može se dobiti iz krivulje koja povezuje apsorpciju s valnom duljinom. Jedini nedostatak ovog tipa detektora je da je njegova rezolucija ograničena brojem dioda koje se nalaze u nizu [17].

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

## 3.1 Materijali

### 3.1.1 Kemikalije

Kemikalije korištene tijekom izvođenja eksperimentalnog dijela rada, te proizvođači kemikalija prikazani su u tablici 1.

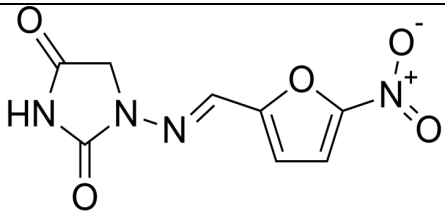
**Tablica 1:** Popis korištenih kemikalija

NAZIV	MOLEKULSKA FORMULA	ČISTOĆA	PROIZVOĐAČ
Acetonitril	CH <sub>3</sub> CN	p.a.	Kemika, Hrvatska
Amonijev hidroksid	NH <sub>4</sub> OH	p.a.	Poch, Poljska
Askorbinska kiselina	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	p.a.	Gram-Mol, Hrvatska
Huminska kiselina	-	p.a.	Sigma-Aldrich, Njemačka
Kloridna kiselina	HCl	p.a.	Merck, Njemačka
Limuska kiselina	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	p.a.	Gram-Mol, Hrvatska
Metanol	CH <sub>3</sub> OH	p.a.	Kemika, Hrvatska
Mravlja kiselina	HCOOH	p.a.	Orka Lab, Hrvatska
Natrijev fosfat	Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ·12H <sub>2</sub> O	p.a.	Kemika, Hrvatska
Natrijev hidrogenfosfat	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	p.a.	Kemika, Hrvatska
Natrijev hidrogenkarbonat	NaHCO <sub>3</sub>	p.a.	Kemika, Hrvatska
Natrijev hidroksid	NaOH	p.a.	Alkaloid, Makedonija
Natrijev klorid	NaCl	p.a.	Alkaloid, Makedonija
Natrijev nitrat	NaNO <sub>3</sub>	p.a.	Kemika, Hrvatska
Natrijev sulfat	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	p.a.	Kemika, Hrvatska
Saharoza	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	p.a.	Kemika, Hrvatska

### 3.1.2 Nitrofurantoin

Fizikalno-kemijska svojstva ispitivanog farmaceutika nitrofurantoina prikazana su u tablici 2.

**Tablica 2.** Fizikalno-kemijska svojstva nitrofurantoina

<b>Generičko ime</b>	<b>Nitrofurantoin</b>
<b>Grupa farmaceutika</b>	Antibiotik
<b>Strukturna formula</b>	
<b>Molekulska formula</b>	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub>
<b>CAS broj</b>	67-20-9
<b>Molarna masa</b>	238,16 g/mol
<b>Naziv po IUPAC-u</b>	(E)-1-[(5-nitro-2-furyl)methylideneamino]imidazolidine-2,4-dione
<b>pK<sub>K</sub> [18]</b>	7,2
<b>log K<sub>ov</sub>[18]</b>	-0,47

### 3.1.3 Izvorska i sintetska otpadna voda

Za praćenje tijekom fotolitičke razgradnje korišteni su uzorci vode prikupljeni na izvoru Vrapče čijom je prethodnom analizom utvrđeno da ne sadrže ispitivani farmaceutik.

Osim izvorske vode, korištena je i sintetska otpadna voda koja je po svom sastavu slična otpadnoj vodi farmaceutske industrije. Sintetska otpadna voda pripravljena je otapanjem određenih sastojaka u vodovodnoj vodi. Odvage pojedinih tvari korištenih za pripremu 250 mL sintetske otpadne vode su:

$$m(\text{NaCl}) = 0,25000 \text{ g}$$

$$m(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 0,05750 \text{ g}$$

$$m(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = 0,01250 \text{ g}$$



$$m(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6) = 0,00760 \text{ g}$$

$$m(\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}) = 0,02500 \text{ g}$$

pH-vrijednost pripremljene sintetske otpadne vode iznosila je 7,23.

Karakterizacija izvorske i vodovodne vode korištene za pripremu sintetske otpadne vode je dana u tablici 3.

**Tablica 3.** Karakterizacija izvorske i vodovodne vode

	<b>Izvorska voda</b>	<b>Vodovodna voda</b>
<b>pH</b>	8,12	7,01
<b>Vodljivost, <math>\mu\text{S}/\text{cm}</math></b>	523	597
<b>Cl<sup>-</sup>, mg/L</b>	1,06	8,53
<b>NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, mg/L</b>	0,77	2,95
<b>SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, mg/L</b>	1,86	7,31
<b>DOC, mg/L</b>	0,872	0,547

## 3.2 Instrumenti

### 3.2.1 Analitička vaga

Analitička vaga je instrument koji se koristi za precizno određivanje mase tvari. Vrlo je osjetljiv i skup instrument, a o njezinoj ispravnosti i preciznosti ovisi točnost rezultata mjerenja. Najrašireniji tip analitičke vage je vaga nosivosti 100 g i osjetljivosti 0,1 mg. Nije moguće napraviti nijednu kvantitativnu kemijsku analizu bez njezine upotrebe jer uvijek treba odvagati uzorak za analizu i potrebne količine reagensa za pripremu otopina, bez obzira na metodu koju koristimo [18].

Prilikom eksperimenta korištena je analitička vaga XS204 DeltaRange proizvođača Mettler Toledo (Greifensee, Švicarska) prikazana na slici 6., slijedećih specifikacija:

- maksimalni kapacitet: 220 g
- očitavanje: 0,1 mg
- minimalna odvaga ( $U=1\%$ ,  $s=2$ ): 8 mg
- područje tare: 0 - 220 g
- linearnost: 0,2 mg
- ponovljivost pri maksimalnom kapacitetu ( $s$ ): 0,1 mg



**Slika 6.** Analitička vaga XS204 DeltaRange, Mettler Toledo 15

### 3.2.2 pH-metar

pH-metar je uređaj za potenciometrijsko određivanje pH-vrijednosti.

Tipični pH-metar sastoji se od elektrode koja mjeri pH-vrijednost kao aktivnost vodikovih iona koji okružuju njezin okrugli završetak. Elektroda proizvodi malu voltažu (oko 0,06 V po jedinici pH) što se mjeri i prikazuje kao pH-vrijednost pomoću pH-metra. pH-metar je elektronički instrument koji se koristi za mjerenje pH-vrijednosti (kiselosti ili bazičnosti) tekućih uzoraka (iako postoje posebni uređaji pomoću kojih je moguće mjerenje pH-vrijednosti u polu-krutim tvarima). Prije mjerenja pH-vrijednosti uređaj je potrebno umjeriti s puferima poznatih pH-vrijednosti (pH 4 i pH 7). Za podešavanje pH-vrijednosti uzorka vode korišten je pH-metar S20 SevenEasy (Mettler Toledo, Greifensee, Švicarska) prikazan na slici 7.

Specifikacije pH-metra:

- raspon vrijednosti : 0 - 14
- rezolucija : 0,01 pH
- temperaturni raspon : 5 °C - 105 °C



**Slika 7.** pH-metar S20 SevenEasy 16

### 3.2.3 Uređaj za filtraciju

Prije provođenja eksperimenata, uzorak izvorske vode je profiltriran kako bi se uklonile suspendirane čestice. U ovom radu korišten je PALL Life Sciences uređaj za filtraciju (Washington, SAD) (slika 8.), pri čemu su korišteni polipropilenski membranski filtri (GH Polypro, 47 mm, 0,45  $\mu\text{m}$ ) pri tlaku od 600 mmHg.



**Slika 8.** Uređaj za filtraciju

### 3.2.4 Suntest CPS+

Suntest CPS+ (Atlas, Linsengericht, Njemačka) (slika 9.) je uređaj koji služi za osvjetljavanje uzoraka umjetnim Sunčevim zračenjem u rasponu valnih duljina 300 - 800 nm. Izvor umjetnog Sunčeva zračenja je ksenonska lampa. Parametri koji se mogu podešavati su temperatura, intenzitet lampe i vrijeme izlaganja uzorka zračenju.



**Slika 9.** Suntest CPS+

### 3.2.5 Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti u svrhu kvalitativnog i kvantitativnog određivanja nitrofurantoina provedena je na Varian ProStar 500 sustavu (Walnut Creek, California, USA), prikazanog na slici 10. HPLC kromatograf sastoji se od:

ProStar 330 detektora s nizom dioda (DAD),

ProStar 230 tercijarne pumpe,

ProStar 410 uređaja za automatsko dodavanje uzorka,

ProStar 500 termostatiranog držača kolone i,

računala s programom Varian ProStar 360 Star Chromatography WorkStation verzija 5.5 za prikupljanje i obradu podataka.



**Slika 10.** Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti, Varian ProStar 500, s detektorom s nizom dioda (HPLC - DAD)

### 3.3 Metode rada

#### 3.3.1 Priprema standardnih otopina nitrofurantoina

Standardne otopine farmaceutika nitrofurantoina (NFT) masene koncentracije 5 mg/L, 10 mg/L, 15 mg/L, 20 mg/L i 25 mg/L pripravljene su vaganjem standarda na analitičkoj vagi (0,0005 g, 0,0010 g, 0,0015 mg/L, 0,0020 g, 0,0025 g). Odvagani standard potom je kvantitativno prenesen u odmjernu tikvicu od 100 mL koja je nadopunjena do oznake. Ovisno o eksperimentu koji se provodio tikvice su nadopunjene s MilliQ vodom (pH 4, pH 6, pH 8 ili pH 10), izvorskom ili sintetskom otpadnom vodom te otopinama fosfata (10 i 250 mg/L), klorida (1 i 10 mg/L), nitrata (1 i 3 mg/L), sulfata (2 i 10 mg/L) i huminskim kiselinama (HA) (0,5 i 1 mg/L).

Standardne otopine čuvane su u mraku na temperaturi od 4 °C.

#### 3.3.2 Osvjetljavanje otopina nitrofurantoina

Pripremljene otopine farmaceutika (40 mL) u MilliQ vodi, izvorskoj i sintetskoj otpadnoj vodi te otopinama fosfata, klorida, nitrata, sulfata i huminskih kiselina osvjetljavane su u posudicama od kvarcnog stakla. Tijekom eksperimenata intenzitet zračenja bio je 250 i 500W/m<sup>2</sup>, a temperatura je održavana na (25±2) °C.

Tijekom provođenja svakog eksperimenta fotorazgradnje korišteni su i kontrolni uzorci. Oni su imali isti sastav kao i osvjetljavane otopine te su bili izloženi istim uvjetima osvjetljavanja ali zaštićeni od utjecaja svjetlosti (kvarcne posude s kontrolnim uzorcima bile su zamotane u aluminijsku foliju). Kontrolni uzorci korišteni su kako bi se potvrdilo da je razgradnja farmaceutika posljedica samo djelovanja svjetlosti, te da ne dolazi do hidrolize. U određenim vremenskim intervalima uzimani su alikvoti osvjetljavanih otopina farmaceutika (500 µL) i analizirani HPLC-DAD-om kako bi utvrdili tijek fotorazgradnje nitrofurantoina.

### 3.3.3 Analiza tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti

Kromatografsko određivanje NTF-a izvedeno je kromatografijom obratnih faza na koloni LiChrosphere 100 CN dimenzija 125 x 4,0 mm i promjera čestica punjenja 5 µm (Merck, Njemačka). Kao pokretna faza u kromatografskom sustavu korištena je 0,1 % mravlja kiselina u MilliQ vodi (A) i 0,1 %-tna mravlja kiselina u metanolu (B). Korišteno je gradijentno eluiranje uz protok od 0,5 ml/L (tablica 4). Volumen injektiranja iznosio je 10 µL. Valna duljina određivanja je 360 nm, a određena je prema maksimumu apsorbancije nitrofurantoina.

**Tablica 4.** Sastav pokretne faze tijekom kromatografske analize

<b>t/min</b>	<b>% A</b>	<b>% B</b>
0	100	0
5	100	0
6	70	30
10	70	30
15	100	0

## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

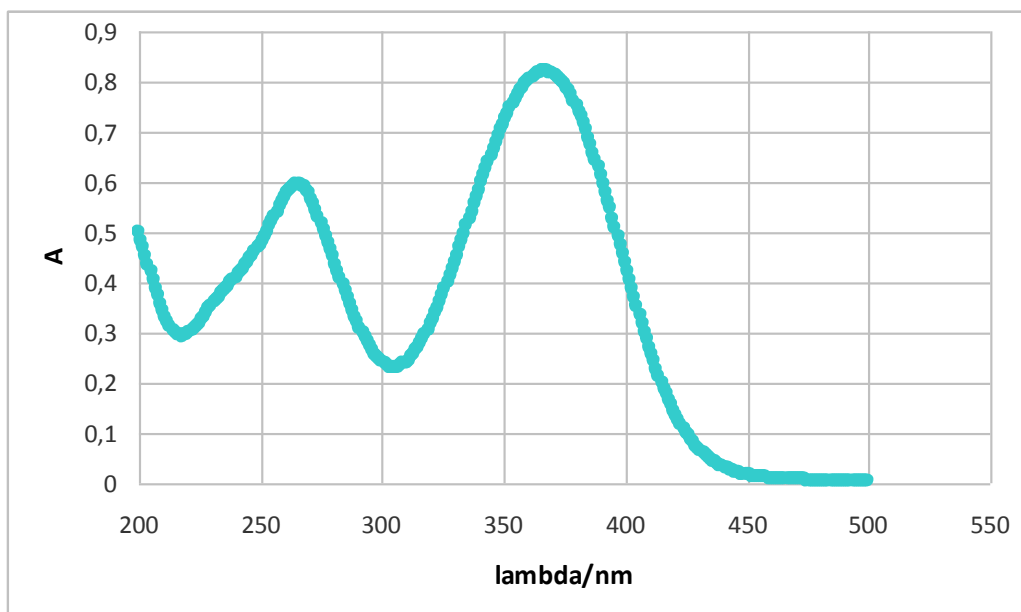


Nakon dolaska u okoliš farmaceutici mogu biti podvrgnuti biotičkim i abiotičkim procesima koji mogu voditi njihovoj razgradnji. Rezultat razgradnje je smanjenje koncentracije početnog spoja, te nastanak razgradnih produkata koji mogu biti više ili manje toksični u odnosu na početni spoj. Stoga je važno poznavati ponašanja farmaceutika u okolišu kako bi se mogao procijeniti eventualni rizik kao posljedica njihove prisutnosti u okolišu. Fotolitička razgradnja može biti značajan proces smanjenja njihove koncentracije u okolišu ukoliko su oni topljivi u vodi i osjetljivi na Sunčevu svjetlost, te nisu podložni sorpciji i hidrolizi. Spoj može biti podložan fotolitičkoj razgradnji ukoliko apsorbira Sunčevo zračenje pri čemu fotokemijske promjene najčešće uzrokuju ultraljubičasto zračenje. Apsorpcijski spektar NFT-a snimljen je na spektrofotometru u rasponu valnih duljina 200–500 nm te je utvrđeno da apsorbira u području UV zračenja (slika 11). Kao što se može vidjeti apsorpcijski spektar NFT-a pokazuje dva maksimuma, prvi pri valnoj duljini od 268 nm a drugi pri valnoj duljini od 368 nm. Zbog preklapanja apsorpcijskog spektara NFT-a sa spektrom Sunčeva zračenja u području 300-325 nm, mogućnost njegove razgradnje pod utjecajem Sunčeve svjetlosti ne može se isključiti.

U ovom radu osim fotolitičke razgradnje NFT-a u MilliQ vodi pri različitim pH-vrijednostima (pH 4, pH 6, pH 8 i pH 10), ispitana je i njegova fotolitička razgradnja u izvorskoj vodi i sintetskoj otpadnoj vodi. S obzirom da su dosadašnja istraživanja na drugim farmaceuticima pokazala da različiti sastojci matice vode (nitrati, kloridi, sulfati, huminske kiseline, fosfati) mogu utjecati na brzinu fotolitičke razgradnje bilo da je usporavaju ili ubrzavaju, ispitan je i njihov pojedinačni utjecaj na fotolitičku razgradnju NFT-a. Budući da se prirodna i otpadna voda razlikuju svojim sastavom kao i koncentracijom prisutnih tvari, ispitan je utjecaj nitrata, klorida, sulfata, huminskih kiselina i fosfata pri dvije različite koncentracije.

Osim različitih koncentracija tvari prisutnih u vodama, brzina fotolitičke razgradnje farmaceutika ovisi i o koncentraciji samog farmaceutika. Stoga je u ovom radu praćena brzina fotolitičke razgradnje NFT-a pri pet različitih koncentracija (5 mg/L, 10 mg/L, 15 mg/L, 20 mg/L i 25 mg/L).

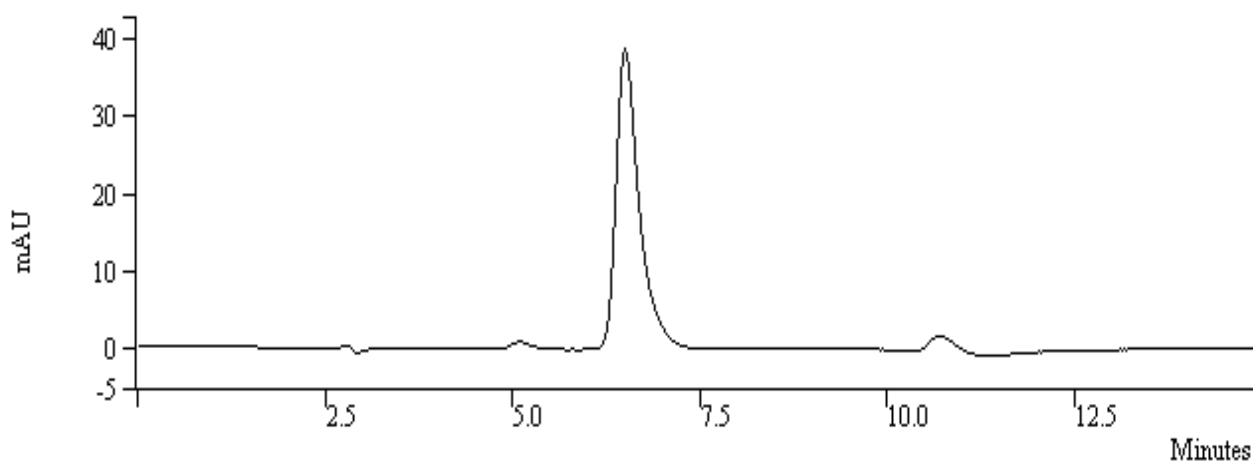
Na brzinu fotolitičke razgradnje farmaceutika utječu i neki drugi čimbenici poput dubine vode, geografske širine, godišnjeg doba te intenziteta Sunčeva zračenja. Stoga je u ovom radu ispitan i utjecaj intenziteta zračenja na brzinu fotolitičke razgradnje NFT-a (250 W/m<sup>2</sup> i 500 W/m<sup>2</sup>).



**Slika 11.** Apsorpcijski spektar nitrofurantoina

#### 4.1 Kromatografska analiza

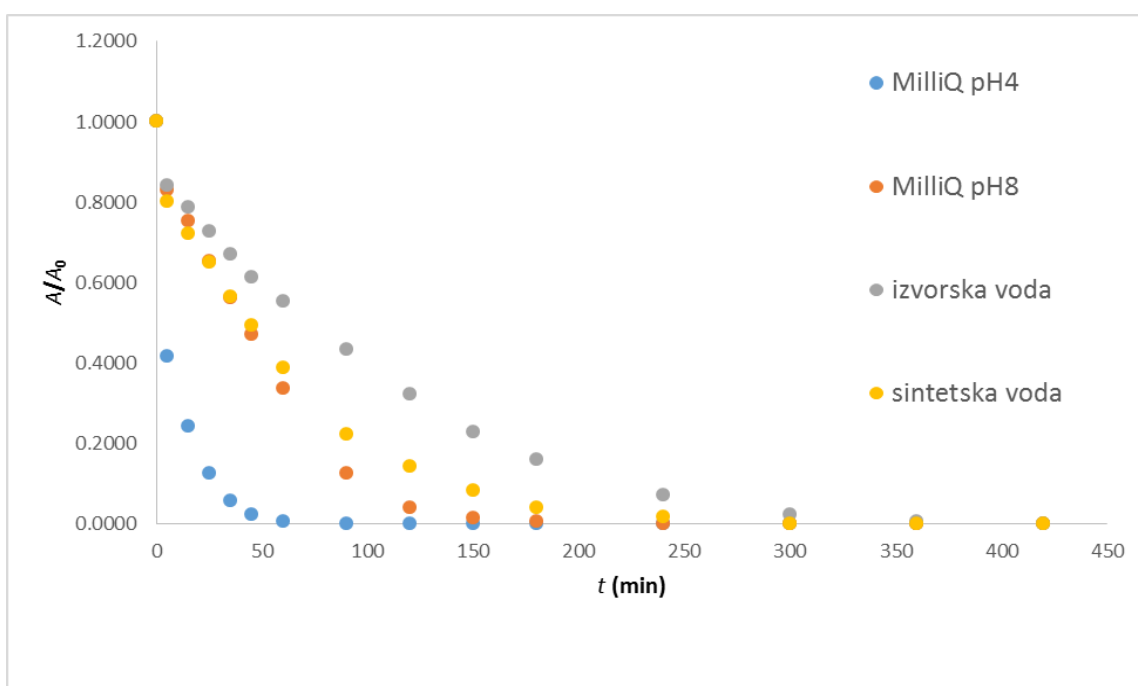
Promjena koncentracije NFT-a tijekom izlaganja umjetnom Sunčevom zračenju praćena je tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti s detektorom s nizom dioda. Promjena koncentracije praćena je kao promjena površine ispod kromatografske vrpce, odnosno omjer  $A/A_0$ , pri čemu je  $A_0$  površina ispod kromatografske vrpce početne otopine NFT-a prije fotolize, a  $A$  je površina ispod kromatografske vrpce NFT-a nakon određenog vremena ( $t$ ) trajanja fotolize. Kromatogram nitrofurantoina prikazan je na slici 12.



**Slika 12.** Kromatogram nitrofurantoina

## 4.2 Kinetika fotolitičke razgradnje

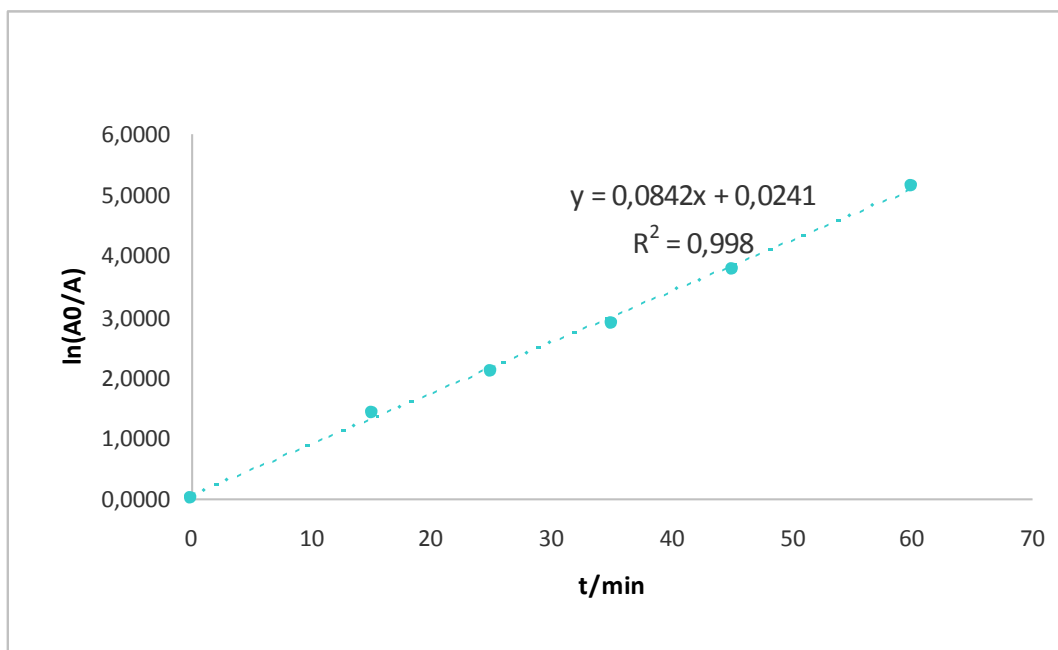
Tijekom izlaganja umjetnom Sunčevu zračenju uočeno je smanjenje koncentracije nitrofurantoina. Na slici 12. prikazana je promjena koncentracije nitrofurantoina u ovisnosti o vremenu izlaganja umjetnom Sunčevu zračenju u sve tri ispitivane vodene matice. Promjena koncentracije NFT-a praćena je kao promjena površine ispod kromatografske vrpce  $A/A_0$ , pri čemu je  $A_0$  površina ispod kromatografske vrpce početne otopine NFT-a prije fotolize, a  $A$  je površina ispod kromatografske vrpce NFT-a nakon određenog vremena ( $t$ ) trajanja fotolize.



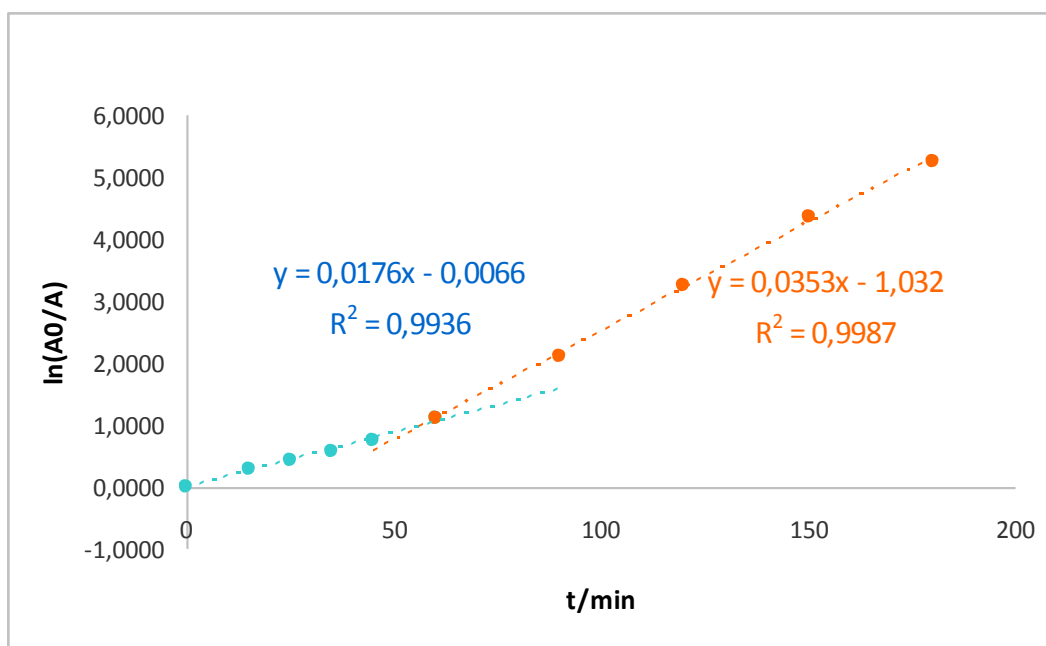
**Slika 13.** Razgradnja nitrofurantoina (10 mg/L) u MilliQ (pH 4 i 8), izvorskoj i sintetskoj otpadnoj vodi

Za razliku od otopina koje su bile izložene umjetnom Sunčevu zračenju, u kontrolnim uzorcima nije došlo do smanjenja koncentracije nitrofurantoina što je potvrda da je razgradnja isključivo posljedica fotolize te da ne dolazi do hidrolitičke razgradnje nitrofurantoina.

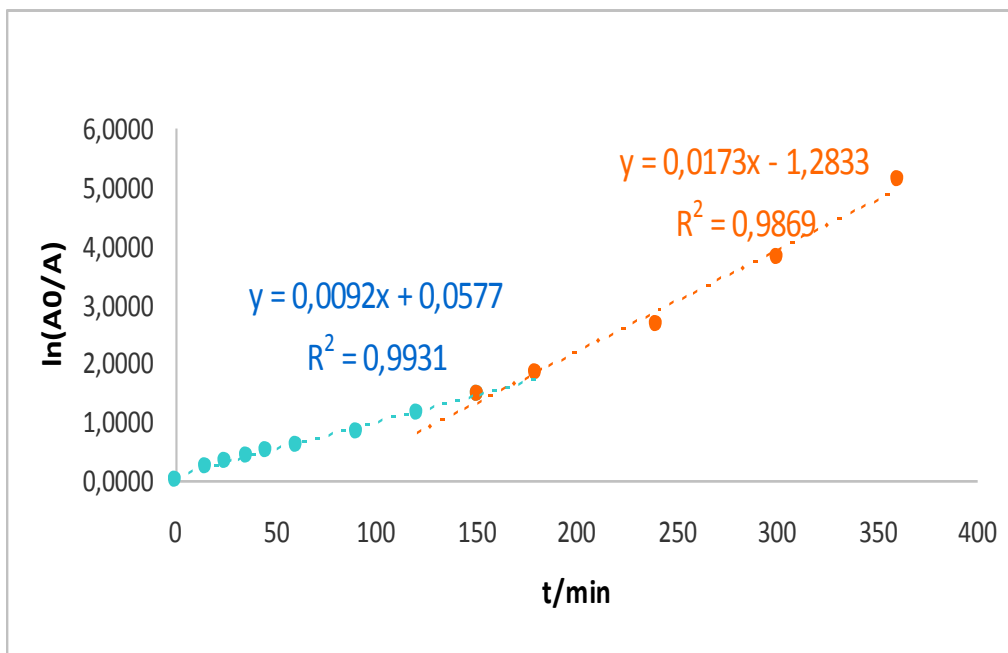
Da bi se odredila kinetika fotolitičke razgradnje NFT-a dobiveni rezultati prikazani su grafički kao ovisnost  $\ln(A_0/A)$  o vremenu što je prikazano na slikama 14-17.



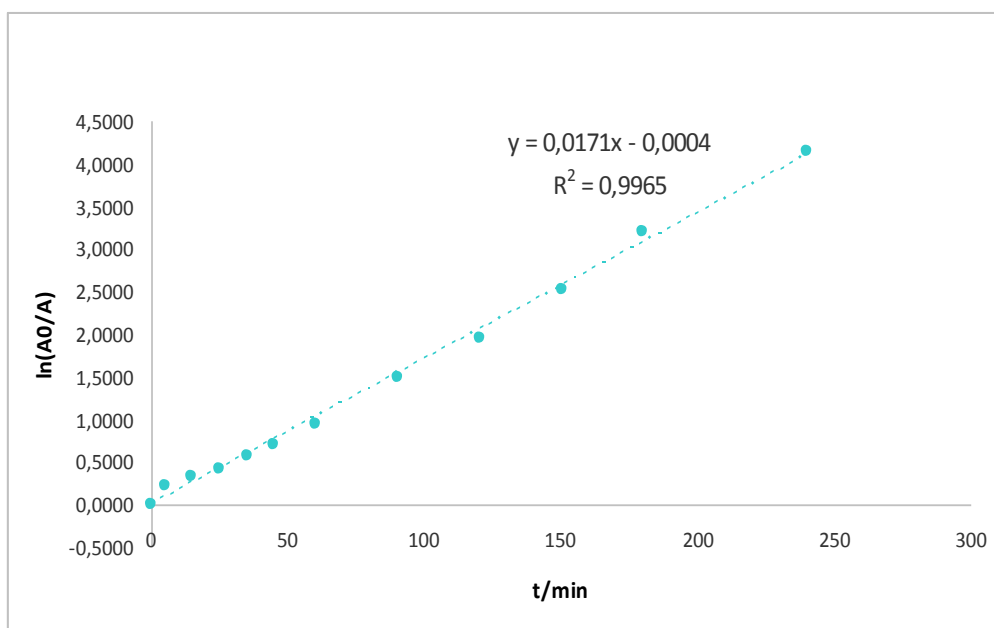
**Slika 14.** Ovisnost  $\ln(A_0/A)$  o vremenu za fotolitičku razgradnju nitrofurantoina u MilliQ vodi pri pH 4



**Slika 15.** Ovisnost  $\ln(A_0/A)$  o vremenu za fotolitičku razgradnju nitrofurantoina u MilliQ vodi pri pH 8



**Slika16.** Ovisnost  $\ln(A_0/A)$  o vremenu za fotolitičku razgradnju nitrofurantoina u izvorskoj vodi



**Slika 17.** Ovisnost  $\ln(A_0/A)$  o vremenu za fotolitičku razgradnju nitrofurantoina u sintetskoj otpadnoj vodi

Kao što se može vidjeti iz prikazanih rezultata, fotolitička razgradnja NTF-a može se opisati reakcijom prvog reda (MilliQ pri pH 4 i sintetska otpadna voda) pri čemu se koncentracija nitrofurantoina smanjuje proporcionalno vremenu:

$$A = A_0 \cdot e^{-k \cdot t} \quad (4)$$

dok u druga dva slučaja (MilliQ pri pH 8 i izvorska voda) fotolitička razgradnja NTF-a je nešto složenija i može se podijeliti u dva područja, a u svakom slijedi kinetiku prvog reda:

$$A = A_0 \cdot e^{-k_1 \cdot t} + B_0 \cdot e^{-k_2 \cdot t} \quad (5)$$

Gdje je  $A_0(B_0)$  površina ispod kromatografske vrpce za početnu koncentraciju spoja,  $A$  je površina kromatografske vrpce u određenom vremenu ( $t$ ), a  $k$  ( $\text{min}^{-1}$ ) je konstanta brzine razgradnje. Vremena poluraspada izračunata su prema izrazu 3:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (6)$$

U svim slučajevima je koeficijent determinacije ( $r^2$ ) je veći od 0,97.

Dobivene konstante brzine razgradnje ( $k$ ) nitrofurantoina u MilliQ pri pH 4, MilliQ pri pH 8, izvorskoj i sintetskoj otpadnoj vodi te vremena poluraspada ( $t_{1/2}$ ) prikazana su u tablici 5.

**Tablica 5.** Konstante brzine razgradnje nitrofurantoina i vremena poluraspada

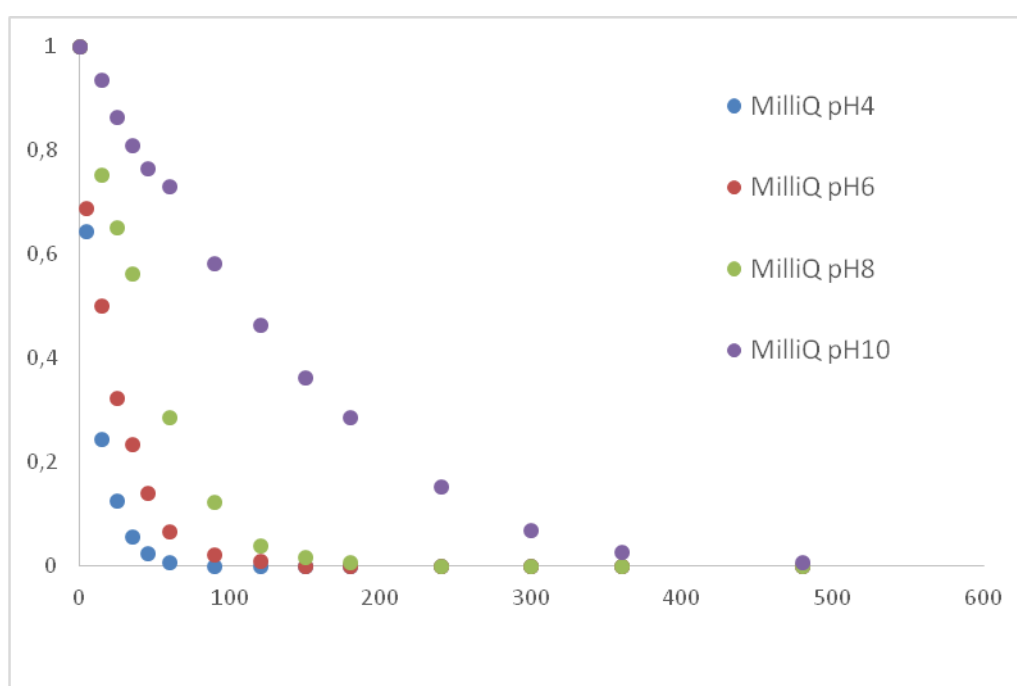
	$k_1$ ( $\text{min}^{-1}$ ) <sub>1</sub>	$k_2$ ( $\text{min}^{-1}$ ) <sub>2</sub>	$t_{1/2-1}$ (min)	$t_{1/2-2}$ (min)
<b>MilliQ pH4</b>	0,0842	-	8,23	-
<b>MilliQ pH8</b>	0,0176	0,0353	39,38	19,64
<b>Izvorska voda</b>	0,0092	0,0173	75,34	40,07
<b>Sintetska otpadna voda</b>	0,0171	-	40,53	-

Na temelju vrijednosti konstanti brzine razgradnje i vremena poluraspada, prikazanih u tablici 5., razgradnja NTF-a je najbrža u MilliQ vodi pri pH 4 dok je nešto sporija u MilliQ vodi pri

pH 8. Također, navedeni rezultati pokazuju da sastav matice uzorka vode utječe na brzinu fotolitičke razgradnje NFT-a.

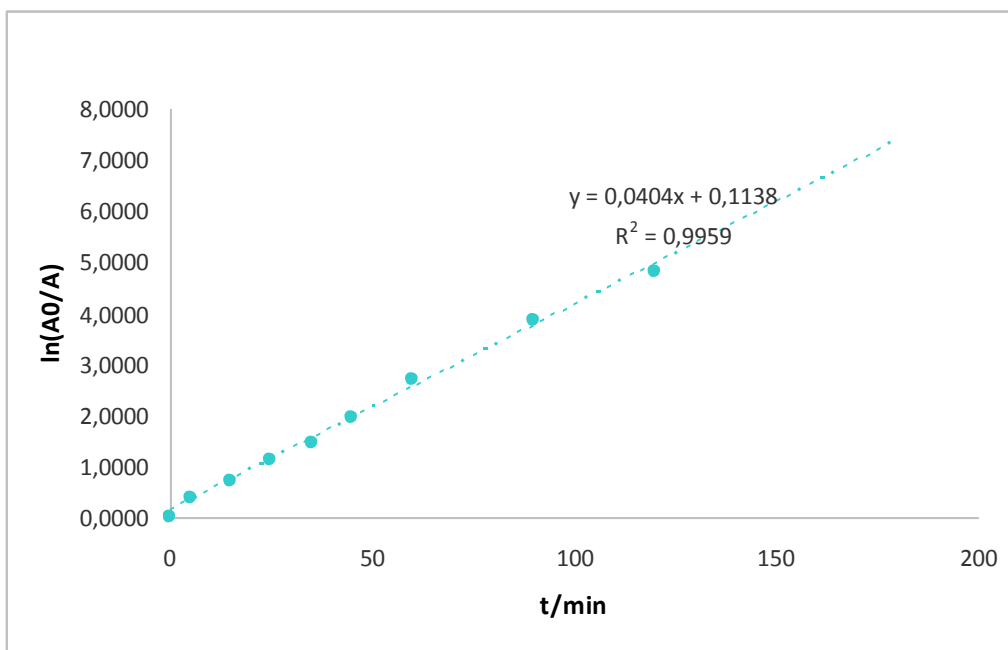
### 4.3 Utjecaj pH-vrijednosti na fotolitičku razgradnju nitrofurantoina

Fotolitička razgradnja NFT-a praćena je na nekoliko različitih pH-vrijednosti MilliQ vode pri (pH 4, pH6, pH8 i pH10). Rezultati su prikazni na slici 18

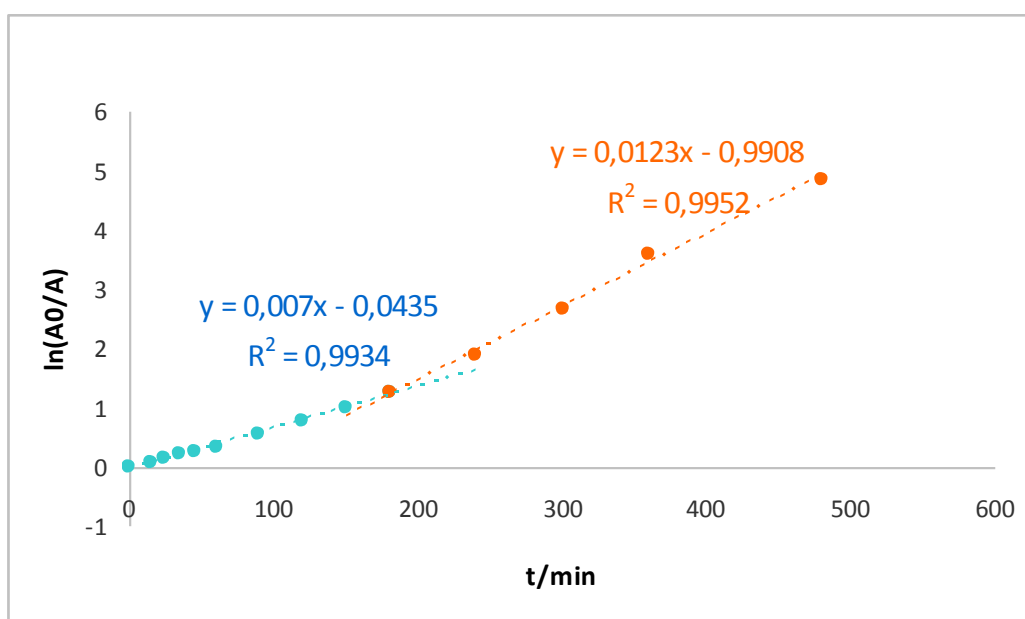


**Slika 18.** Razgradnja nitrofurantoina (10 mg/L) u MilliQ vodi pri pH 4, pH 6, pH 8 i pH 10

Da bi se odredila kinetika fotolitičke razgradnje NTF-a pri različitim pH-vrijednostima dobiveni rezultati prikazani su grafički kao ovisnost  $\ln(A_0/A)$  o vremenu što je prikazano na slikama 19 i 20.



**Slika 19.** Ovisnost  $\ln(A_0/A)$  o vremenu za fotolitičku razgradnje nitrofurantoina u MilliQ vodi pri pH 6



**Slika 20.** Ovisnost  $\ln(A_0/A)$  o vremenu za fotolitičku razgradnje nitrofurantoina u MilliQ vodi pri pH 10

Dobivene konstante brzine razgradnje ( $k$ ) nitrofurantoina u MilliQ vodi pri pH 4, pH 6, pH 8 i pH 10 te vremena poluraspada ( $t_{1/2}$ ) prikazana su u tablici 6.



**Tablica 6.** Konstante brzine razgradnje nitrofurantoina i vremena poluraspada

	$k_1$ ( $\text{min}^{-1}$ ) <sub>1</sub>	$k_2$ ( $\text{min}^{-1}$ ) <sub>2</sub>	$t_{1/2-1}$ (min)	$t_{1/2-2}$ (min)
<b>MilliQ pH 4</b>	0,0842	-	8,23	-
<b>MilliQ pH6</b>	0,0404	-	17,16	-
<b>MilliQ pH8</b>	0,0176	0,0353	39,38	19,64
<b>MilliQ pH10</b>	0,0070	0,0123	99,02	56,35

Praćenjem utjecaja pH-vrijednosti na brzinu razgradnje NTF-a može se vidjeti da je vrijeme poluraspada najbrže pri najnižoj pH-vrijednosti (pH 4), a s povećanjem pH-vrijednosti brzina razgradnje se usporava.

#### 4.4 Utjecaj koncentracije nitrofurantoina na brzinu fotolitičke razgradnje

Fotolitička razgradnja NTF-a praćena je pri pet različitih koncentracija (5 mg/L, 10 mg/L, 15 mg/L, 20 mg/L i 25 mg/L) u MilliQ vodi pH 6.

Dobivene konstante brzine razgradnje ( $k$ ) NTF-a i vremena poluraspada ( $t_{1/2}$ ) prikazana su u tablici 7.

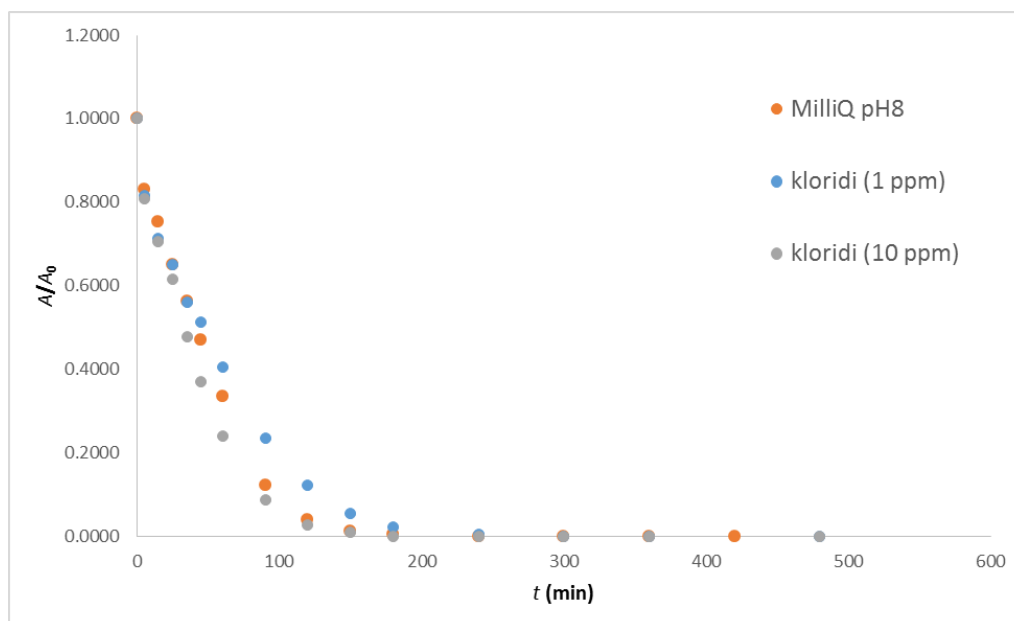
**Tablica 7.** Konstante brzine razgradnje nitrofurantoina i vremena poluraspada

$\gamma$ (mg/L)	$k_1$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (min)
5	0,0509	11,38
10	0,0404	17,16
15	0,0304	22,80
20	0,0289	23,98
25	0,0266	26,06

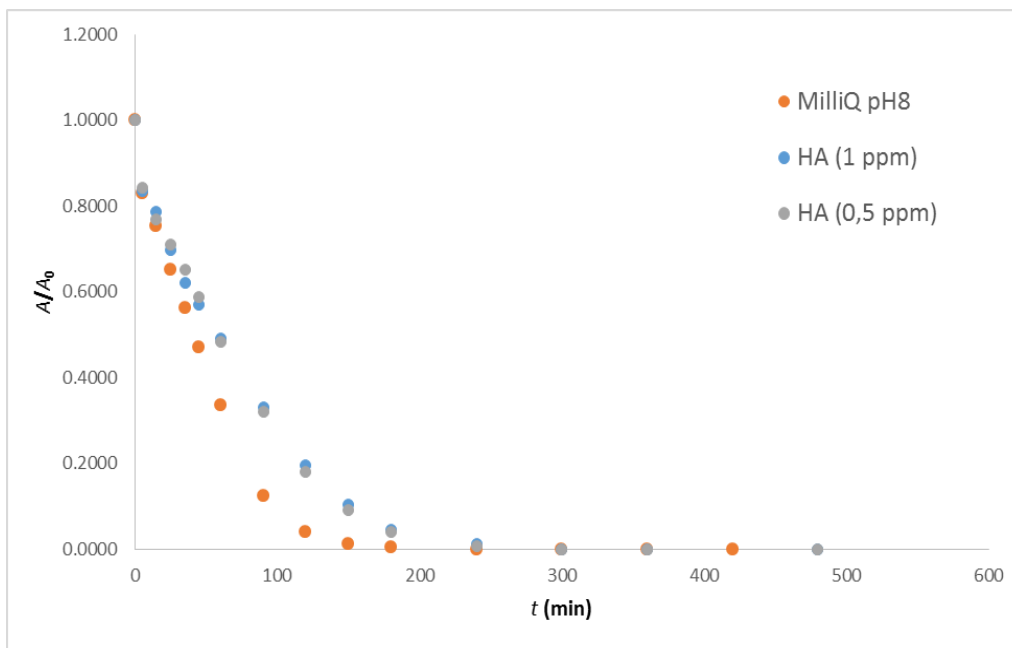
Praćenjem utjecaja različitih koncentracija NTF-a na brzinu fotolitičke razgradnje, može se vidjeti da je vrijeme poluraspada najbrže kod najmanje koncentracije (5 mg/L). Postupnim povećanjem koncentracije NTF-a razgradnja se usporava te je najsporija pri koncentraciji od 25 mg/L.

#### 4.5 Utjecaj matice uzorka na fotolitičku razgradnju nitrofurantoina

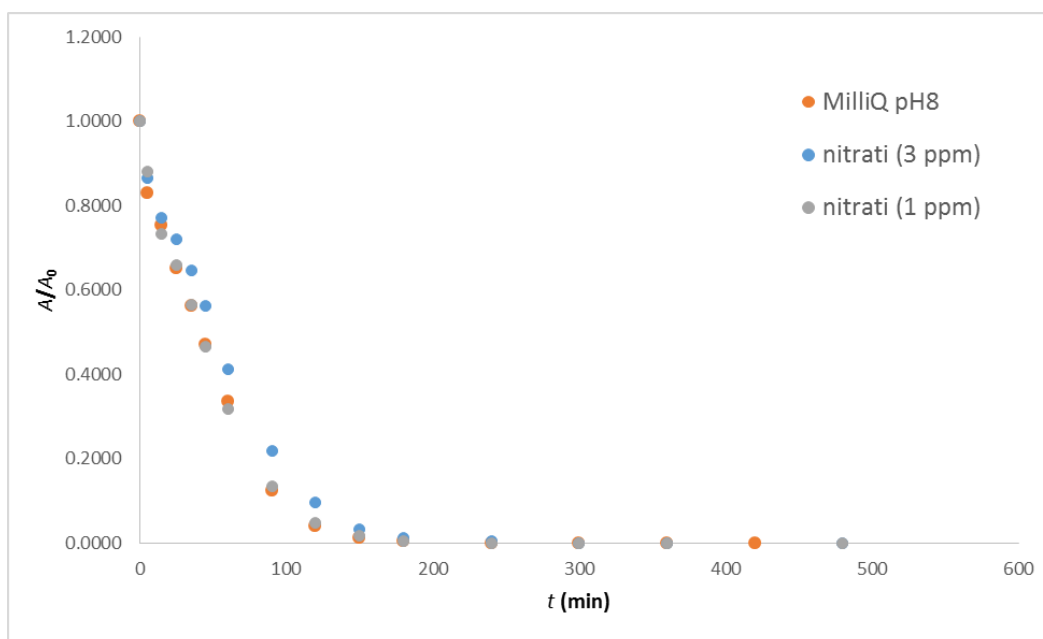
Drugačije ponašanje NFT-a u izvorskoj i sintetskoj otpadnoj vodi u usporedbi s MilliQ vodom rezultat je utjecaja različitih tvari prisutnih u realnim uzorcima vode. Stoga, da bi se ispitalo utjecaj sastojaka vode na brzinu fotolitičke razgradnje NFT-a, provedeni su eksperimenti u otopinama  $\text{Cl}^-$  (1 i 10 mg/L),  $\text{NO}_3^-$  (1 i 3 mg/L),  $\text{SO}_4^{2-}$  (2 i 10 mg/L),  $\text{PO}_4^{3-}$  (10 i 250 mg/L) i HA (0,5 i 1 mg/L) pri koncentracijama u kojima su navedeni ioni prisutni u izvorskoj odnosno sintetskoj otpadnoj vodi. Dobiveni rezultati prikazani su na slikama 21-25.



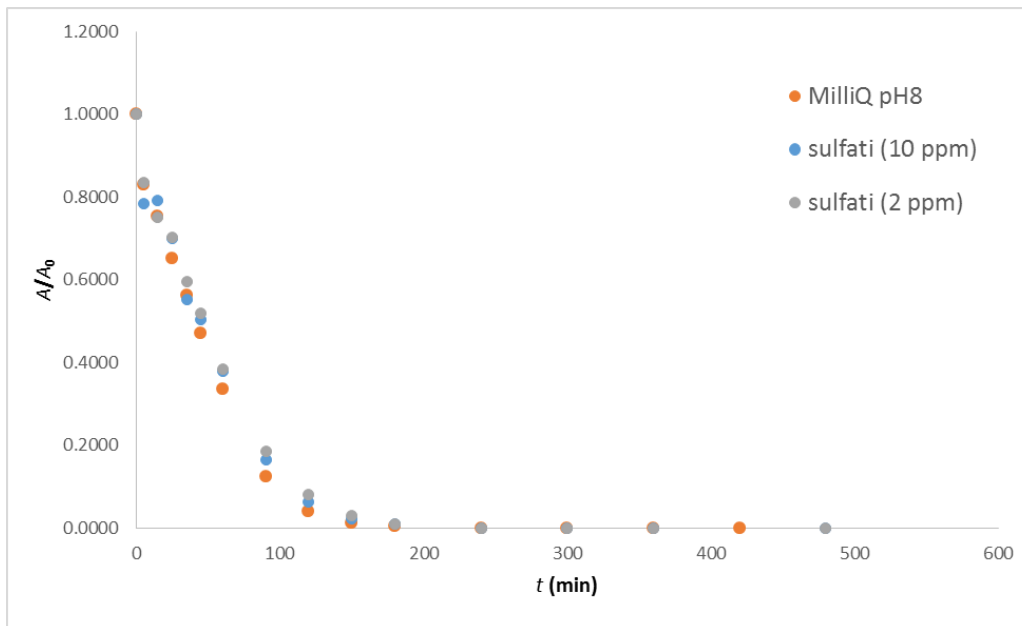
**Slika 21.** Utjecaj klorida na razgradnju nitrofurantoina



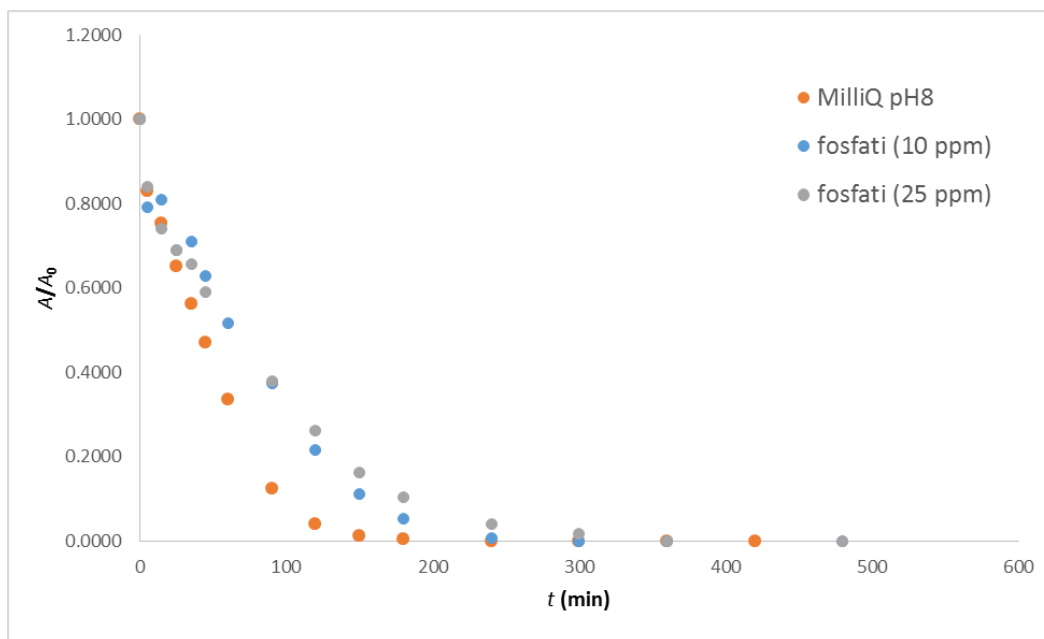
**Slika 22.** Utjecaj huminskih kiselina na razgradnju nitrofurantoina



**Slika 23.** Utjecaj nitrata na razgradnju nitrofurantoina



**Slika 24.** Utjecaj sulfata na razgradnju nitrofurantoina



**Slika 25.** Utjecaj fosfata na razgradnju nitrofurantoina

U tablici 8. prikazani su rezultati ispitivanja utjecaja pojedinih sastojaka matice uzorka na brzinu fotolitičke razgradnje nitrofurantoina.

**Tablica 8.** Konstante brzine razgradnje nitrofurantoina, i vremena poluraspada u MilliQ vodi pri pH 8 i u prisutnosti različitih sastojaka matice

	$\gamma$ (mg/L)	$k_1$ (min <sup>-1</sup> ) <sub>1</sub>	$k_2$ (min <sup>-1</sup> ) <sub>2</sub>	$t_{1/2-1}$ (min)	$t_{1/2-2}$ (min)
<b>MilliQ voda pH 8</b>	-	0,0176	0,0353	39,38	19,64
<b>Cl<sup>-</sup></b>	1	0,0168	0,0305	41,26	22,73
	10	0,0234	0,0378	29,62	18,34
<b>NO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	1	0,0161	0,0338	43,05	20,51
	3	0,0132	0,0281	52,51	24,67
<b>PO<sub>4</sub><sup>3-</sup></b>	10	0,0105	0,0216	66,01	32,09
	250	0,0103	0,0151	67,30	45,90
<b>SO<sub>4</sub><sup>2-</sup></b>	2	0,0152	0,0303	45,60	22,88
	10	0,0161	0,0320	43,05	21,66
<b>HA</b>	0,5	0,0121	0,0255	57,28	27,18
	1	0,0118	0,0232	58,74	29,88

Kao što se može vidjeti iz tablice 8 utjecaj pojedinih sastojaka matice uzorka na fotolitičku razgradnju NFT-a u odnosu na MilliQ vodu pri pH 8 je različit.

Iz dobivenih rezultata može se uočiti da sulfati ne utječu na brzinu fotolitičke razgradnje nitrofurantoina. Cl<sup>-</sup> u koncentraciji 1 ppm (izvorska voda) i NO<sub>3</sub><sup>-</sup> u koncentraciji 3 ppm (sintetska otpadna voda) uzrokuju lagano smanjenje brzine fotolize NFT-a. Značajniji utjecaj u vidu smanjenja brzine razgradnje može se uočiti kada su prisutne HA u obje ispitivane koncentracije. Međutim, najveći utjecaj na smanjenje brzine fotolitičke razgradnje NFT-a imaju fosfati. Kao što se moglo vidjeti u poglavlju 4.2., fotolitička razgradnja NFT-a ovisi i o pH-vrijednosti, brža je pri nižim nego pri višim pH-vrijednostima što je u skladu s bržom razgradnjom NFT-a u sintetskoj otpadnoj vodi (pH 7,23) u odnosu na izvorsku vodu (pH 8,25) (slika 12 i tablica 5).

Ukupna brzina razgradnje analita u vodama u okolišu rezultat je sume doprinosa pojedinih sastojaka matice uzorka.

## 4.6 Utjecaj intenziteta sunčanja na fotolitičku razgradnju nitrofurantoina

Fotolitička razgradnja NFT-a u poglavljima 4.1. - 4.4. praćena je uz intenzitet zraćenja od 500 W/m<sup>2</sup>. Kako bi odredili utjecaj intenziteta zraćenja na brzinu fotolitičke razgradnje ispitivanog farmaceutika u ovom poglavlju praćena je fotolitička razgradnja NFT-a (10 mg/L) u MilliQ vodi (pH 4 i pH 8), izvorskoj i sintetskoj otpadnoj vodi uz zraćenje intenziteta 250 W/m<sup>2</sup>.

Dobivene konstante brzine razgradnje (*k*) nitrofurantoina u MilliQ vodi, izvorskoj i sintetskoj otpadnoj vodi te vremena poluraspada (*t*<sub>1/2</sub>) prikazana su u tablici 9. Kao što se može vidjeti iz dobivenih rezultata brzina razgradnje NFT-a je veća pri većem intenzitetu zraćenja, što je i očekivano.

**Tablica 9.** Konstante brzine razgradnje nitrofurantoina i vremena poluraspada na 250 W/m<sup>2</sup> i 500 W/m<sup>2</sup>

	<i>MilliQ pH 4</i>		<i>MilliQ pH 8</i>		<i>Izvorska voda</i>		<i>Sintetska otpadna voda</i>	
<i>I(W/m<sup>2</sup>)</i>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>250</b>	<b>500</b>
<i>t</i> <sub>1/2-1</sub>	20,21	8,23	99,02	39,38	157,00	75,34	93,67	40,53
<i>t</i> <sub>1/2-2</sub>	-	-	45,30	19,64	90,02	40,07	-	-

## **5. ZAKLJUČCI**

U ovom radu ispitivana je brzina fotolitičke razgradnje nitrofurantoina djelovanjem umjetne Sunčeve svjetlosti. Istraživanja su provedena u MilliQ vodi, izvorskoj i sintetskoj otpadnoj vodi. Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti sljedeće:

- ✓ Kod svih ispitivanih uzoraka uočeno je smanjenje koncentracije NFT-a uslijed izlaganja umjetnom Sunčevom zračenju. U kontrolnim uzorcima nije došlo do smanjenja koncentracije što je dokaz da je uočeno smanjenje koncentracije NFT-a rezultat isključivo djelovanja zračenja.
- ✓ Fotolitička razgradnja nitrofurantoina u ispitivanim uzorcima slijedi reakciju prvog reda uz koeficijent determinacije ( $r^2$ ) veći od 0,97. Fotolitička razgradnja NTF-a može se opisati reakcijom prvog reda (MilliQ voda pri pH 4 i sintetska otpadna voda), dok u druga dva slučaja (MilliQ voda pri pH 8 i izvorska voda) fotolitička razgradnja NFT-a je nešto složenija i može se podijeliti u dva područja, a u svakom slijedi kinetiku prvog reda
- ✓ Rezultati pokazuju da sastav matice uzorka vode utječe na brzinu fotolitičke razgradnje nitrofurantoina:
  - ✓ sulfati ne utječu na brzinu fotolitičke razgradnje nitrofurantoina;
  - ✓  $\text{Cl}^-$  u koncentraciji 1 ppm (izvorska voda) i  $\text{NO}_3^-$  u koncentraciji 3 ppm (sintetska otpadna voda) uzrokuju lagano smanjenje brzine fotolize NFT-a;
  - ✓ značajniji utjecaj u vidu smanjenja brzine razgradnje može se uočiti kada su prisutne HA u obje ispitivane koncentracije;
  - ✓ najveći utjecaj na smanjenje brzine fotolitičke razgradnje NFT-a imaju fosfati.
- ✓ Praćenjem utjecaja različitih koncentracija nitrofurantoina, najbrža razgradnja uočena je pri nižim koncentracijama (5 mg/L), a povećanjem koncentracije nitrofurantoina brzina razgradnje se usporava.
- ✓ Smanjenjem intenziteta umjetnog Sunčevog zračenja smanjuje se brzina fotolitičke razgradnje nitrofurantoina.



**LITERATURA**

1. [http://www.hdki.hr/\\_news/36922/Sazetak%20-%20Vrcek.pdf](http://www.hdki.hr/_news/36922/Sazetak%20-%20Vrcek.pdf), kolovoz, 2016
2. A. K. Kummerer, *Pharmaceuticals in the Environmet*, Springer, Berlin, 2008.
3. M. Kostopoulou, A. Nikolau, Analytical problems and the need for sample preparation in the determination of pharmaceuticals and their metabolites in aqueous environmental matrices, *Trends in Analytical Chemistry*, **27** (2008) 1023-10.
4. M.S. Díaz-Cruz, M.J. López de Alda, D. Barceló, Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge, *Trends in Analytical Chemistry*, **22** (2003) 340-351.
5. [http://infoscience.epfl.ch/record/184714/files/EPFL\\_TH5677.pdf](http://infoscience.epfl.ch/record/184714/files/EPFL_TH5677.pdf), kolovoz 2014.
6. K. Kummerer, Antibiotics in the aquatic environment, *Chemosphere* **75** (2009) 417-434.
7. D. D. Fatta-Kassinos, M.I. Vasquez, K. Kummerer, Transformation products of pharmaceutical sin surface waters and wastewater formed during photolysis and advanced oxidation processes-Degradation, elucidation of byproducts and assessment of theri biological potency, *Chemosphere*, **85** (2011) 693-709.
8. D. D. Fatta-Kassinos, M.I. Vasquez, K. Kummerer, Transformation products of pharmaceutical sin surface waters and wastewater formed during photolysis and advanced oxidation processes-Degradation, elucidation of byproducts and assessment of theri biological potency, *Chemosphere*, **85** (2011) 693-709.
9. M. Mitrevski, Utjecaj sastava matice uzorka vode na fotolitičku razgradnju sulfonamida, Završni rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2014.
10. <https://en.wikipedia.org/wiki/Photodegradation>, srpanj 2016
11. <http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-za-pacijente/infekcije-i-zarazne-bolesti/lijekovi-protiv-zaraznih-bolesti/antibiotici>, kolovoz 2016.
12. <https://en.wikipedia.org/wiki/Nitrofurantoin>, srpanj 2016.
13. Mayo Clinic Proceedings, Nitrofurantoin 86 (2011), str. 1243-1248.
14. Goodman & Gilman's, *The Pharmacological basis of therapeutics*, The McGraw-Hill Companies, Inc., New York (2001), str. 1026-1035.
15. M. Kaštelan-Macan, *Kemijska analiza u sustavu kvalitete*, Školska knjiga, Zagreb, 2003., str. 217-237.
16. S. Luterotti, *Uvod u kemijsku analizu*, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2012.

17. P. W. Scott, Tandem Techniques, John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, (1997.),str. 53-54.
18. P. R Race, A. L Lovering, R. M.Green, A. Oссор, S. A. White, P. F. Searle, C. J. Wrighton and E. I. Hyde, Structural and mechanistic studies of Escherichia coli nitroreductase with the antibiotic nitrofurazone. Reversed binding orientations in different redox states, of the enzyme, *Journal of Biological Chemistry* **280** (2005) 13256-13264.
19. D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, Osnove analitičke kemije, Školska knjiga, Zagreb, 1999.
20. M. Kaštelan-Macan, M. Petrović, Analitika okoliša, HINUS i Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2013.

**ŽIVOTOPIS**

Rođena sam 18. travnja 1993. godine u Zaboku. Nakon završene osnovne škole u Maču, 2008.godine upisujem Klasičnu gimnaziju u Zagrebu. Nakon položene državne mature, 2012.godine upisujem Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu, preddiplomski studij Kemija i inženjerstvo materijala. Na trećoj godini studija odradila sam stručnu praksu na Zavodu za javno zdravstvo dr. Andrija Štampar.

Govorim njemački, talijanski i engleski jezik.

Tijekom godina formalnog edukacijskog procesa, bavim se i volontiranjem u Taizé zajednici i pjevam u Zboru mladih Zagrebačke nadbiskupije.